

سنتز و فرمولاسیون دی اتیل تولوآمید به عنوان دافع حشرات

دکتر حسین عسکری راد*، دکتر محمد علی ابراهیم زاده**، دکتر جعفر اکبری***،
شهرام جهانشاه نژاد****

چکیده:

در طول جنگ جهانی دوم بیش از ده هزار ترکیب شیمیایی به منظور ارزیابی خاصیت دفع کنندگی حشرات مورد آزمایش قرار گرفت. شاید مهم ترین ترکیبی که عرضه شده باشد دی اتیل تولوآمید است که در مقابل تعداد متعددی از حشرات اعم از پشه و مگس مؤثر است. در این تحقیق دی اتیل تولوآمید سنتز و به شکل فرآورده ژل فرموله شده است. تهیه این ترکیب از سنتز استراز اسید اولیه و سپس مجاورت ترکیب حاصل با دی اتیل آمین مورد امتحان قرار گرفت. واکنش اخیر (ترکیب دی اتیل آمین با استر تولید شده) حتی در شرایط مختلف آزمایشگاهی نتیجه ای ندارد. لذا اسید اولیه در حضور تیونیل کلراید به آسید هالید و سپس در مجاورت دی اتیل آمین به دی اتیل تولوآمید تبدیل شد. پس از سنتز این ترکیب، امکان ارائه آن به صورت ژل دافع حشرات مورد بررسی قرار گرفت. در این رابطه عوامل ژل کننده مختلف مانند کاربوپول، هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز (HPMC) مورد آزمایش قرار گرفت. که در نهایت ژل مناسب با استفاده از HPMC تهیه گردید و سپس خصوصیات ژل تهیه شده، مانند پایداری فیزیکی، ویسکوزیته و گسترش پذیری مورد بررسی قرار گرفت. ژلهای تهیه شده پایدار بوده و ژلهای ۱۴ و ۱۸ درصدی از این فرآورده دارای pH به ترتیب ۷/۸۵ و ۷/۸۹ بودند. منحنی رئوگرام ژل ها با کمک ویسکومتر بروکفیلد مدل LVT رسم شد. بر این مبنا مشخص گردید که ژل های تهیه شده دارای خاصیت روان پذیری پseudoplastic می باشند.

واژه های کلیدی: دی اتیل تولوآمید، دافع حشرات، سنتز، فرمولاسیون، ژل.

مقدمه:

شاید بهترین ترکیباتی که عرضه شده باشند دی اتیل تولوآمید و دی متیل فتالات هستند که در مقابل تعداد متعددی از حشرات مؤثر هستند (۲،۵).

ترکیبات دافع به صورت تکی یا چند جزئی (به صورت ترکیبی) در اشکال مختلف به فرم محلول، امولوسیون، کرم، ژل، استیک برای کاربرد بر روی پوست یا لباس به کار برده می شوند (۴).

شاخک های پشه با گیرنده هایی پوشیده شده اند که جریان دی اکسید کربن و بخار آب را که از میزبان بر می خیزند شناسایی می کند. آنها می توانند با ردیابی این

قبل از سال ۱۹۴۰ مواد خوشبو از قبیل روغن سیترونلا، روغن دانه میخک و کامفر معمولی ترین مواد دافع حشرات بودند. برخی گیاهان نیز مانند برگاموت، اوکالیپتوس، رازیانه، پونه، میخک و درخت چای شناخته شده بودند که این ویژگی را از خود نشان می دادند.

بروز جنگ جهانی دوم و نیاز پرسنل ارتش بویژه در مناطق گرمسیری موجب شد که تحقیقات وسیعی در زمینه کشف و تهیه داروهای دافع حشرات انجام پذیرد (۱۲). بدین منظور بیش از ده هزار ترکیب شیمیایی برای خاصیت دفع کنندگی حشرات مورد تست قرار گرفتند.

* استادیار گروه فارماسیوتیکس - دانشگاه علوم پزشکی: مازندران - دانشکده داروسازی - تلفن: ۳۲۵۹۸۰۲، ۰۱۵۱ (مؤلف مسئول).

** استادیار گروه شیمی دارویی - دانشگاه علوم پزشکی مازندران. *** استادیار گروه فارماسیوتیکس - دانشگاه علوم پزشکی مازندران.

**** دانشجوی داروسازی - دانشکده داروسازی ساری.

جریانات به منبع برسند. با این حال وقتی پشه با فضایی که با دافع پر شده باشد برخورد کند، در سیگنال هایی که به گیرنده ها ارسال می شود اختلال ایجاد شده و دیگر قادر به پیدا نمودن میزبان نخواهد بود (۱۱).

از آنجا که بیماری هایی چون سالک در شمال ایران و مالاریا در جنوب ایران هنوز شایع بوده و عامل انتقال این دو بیماری و بسیاری دیگر از بیماری ها، حشرات و به خصوص پشه هستند لذا بر آن شدیم کوششی در تهیه چند فرآورده کارآمد و مؤثر در دفع حشرات داشته باشیم. در قالب این پروژه مجریان به دنبال سنتز و فرمولاسیون یک ماده دافع حشرات بسیار مؤثر و پذیرفته شده توسط فارماکوپه ها هستند.

دی اتیل تولو آمید با نام های DEET، OFF و دتامید نیز معرفی می شود. این ترکیب مایعی است بی رنگ با بوی مطبوع ضعیف، تقریباً نامحلول در آب و گلیسرین ولی قابل اختلاط با الکل و ایزوپروپیل الکل، نوع تجارتي آن دارای ۹۵ درصد ایزومر متا می باشد، در بین ۳ ایزومر (ارتو، متا و پارا) ایزومر ۱۰ درصد بیشتر از دو ایزومر دیگر مؤثر است (۱۰). این ترکیب دافع مؤثری برای پشه های سیاه، شیگروز (Chiggers)، پشه مالاریا، مگس، کنه، کک و بسیاری از حشرات است. این ترکیب توسط مؤسسه کشاورزی ایالات متحده برای سربازان در اثناء جنگ کره در سال ۱۹۵۱ پیشنهاد شد، که این ترکیب محافظ خوبی برای پشه مالاریا به مدت ۱۸ تا ۲۰ ساعت است. این آزمایشات به صورت مقایسه ای به مدت ۴ تا ۴/۵ ساعت برای یک کرم حاوی ۴۰ درصد دی متیل فتالات در نظر گرفته شده است. برای طولانی تر کردن این زمان، امروزه فرمولاسیون های با اثر طولانی تری در دست بررسی می باشد. این فرآورده های لیپوزومی پس از یک بار مصرف تا ۴۸ ساعت خاصیت خود را حفظ می کنند (۹). از میان ویژگی های دی اتیل تولو آمید، مقاومت در مقابل خشک شدن و تعریق به علت ماهیت

چرب آن دارای اهمیت است. این فرآورده در کشور آلمان به صورت محلول ۱۴ درصد با نام تجارتي OFF ارائه شده است. در فارماکوپه ایالات متحده USP XXIII نیز به صورت محلول موضعی وجود دارد (۶). در سایر کشورها نیز فرآورده های متعددی از آن تهیه شده است (۸). این ترکیب در لیست فهرست سوم مجاز کشور که از طرف سازمان حفظ نباتات منتشر شده است قرار دارد (۱). هدف از انجام این تحقیق، علاوه بر تهیه ماده مؤثر در داخل کشور و بررسی امکان تولید انبوه تر آن در مقیاس نیمه صنعتی، فرمولاسیون ترکیب حاصل به صورت ژل در کشور می باشد. گرچه فرآورده ژل از این ترکیب در خارج از کشور، از جمله آلمان، وجود دارد اما با توجه اقتصادی، اطلاعات در خصوص مواد تشکیل دهنده این فرآورده ها منتشر نشده و هر گونه تلاش در ارائه فرمولاسیون از این ترکیبات مرهون بررسی ها از پایه می باشد. ژل ها، فرآورده ای که در خلال این تحقیق فرموله شده است، اشکال دارویی نیمه جامدی هستند که به دلیل داشتن خصوصیات مانند پخش آسان روی پوست و عدم ایجاد منظره چرب از نظر پذیرش بیمار بسیار مطلوب و مناسب می باشند.

مواد و روشها:

۱- سنتز دی اتیل تولو آمید:

به منظور سنتز این ترکیب ابتدا از ساده ترین روش یعنی مجاورت دی اتیل آمین با استر مربوطه استفاده شد، چرا که تهیه استر مربوطه به سهولت امکان پذیر است در این مرحله به ۲۷/۴ گرم متا متیل بنزوئیک اسید (۲/۰ مول) در ۱۰۰ میلی لیتر متانول مطلق، ۸ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ افزوده شد، مجموعه به مدت یک شب رفلو گردید (در این پدیده، از تاثیر حرارت بر محلول، حلال از محیط تبخیر شده اما به علت وجود دستگاهی به نام خنک کننده، مبرد یا condensor مجدداً به محیط

واکنش برمی گردد. بدین ترتیب پس از گذشت ساعت ها از شروع واکنش محیط خشک نخواهد شد. پس از این مدت متانول اضافه تحت خلاء حذف شده و به مجموعه ۵۰ میلی لیتر کلروفرم اضافه شد. فاز آلی با محلول رقیق سود شستشو داده شد. فاز پایین (کلروفرمی) جدا شده و پس از آبگیری با سولفات سدیم انیدر (خشک، بدون آب) حلال آن در خلاء خارج شد. بدین ترتیب ۳۰ گرم جسم روغنی بی رنگ با بازده ۹۵ درصد حاصل شد.

در مرحله بعد، به ۳۰ گرم استر متیل تهیه شده از مرحله قبل در اتر (۴۰ میلی لیتر)، ۱۵ میلی لیتر دی اتیل آمین (۰/۲ مول) افزوده شد. مجموعه به مدت ۵ ساعت بهم زده شد. کنترل واکنش با کروماتوگرافی بر روی صفحات نازک (TLC) حاکی از حضور ماده اولیه بدون تشکیل لکه جدید بود. با افزایش زمان بهم زدن، حتی تغییر شرایط تجربی، از جمله رفلو در اتر، رفلو در اتانول، رفلو در بنزن و حتی رفلو در خود دی اتیل آمین جسم جدیدی حاصل نشد و در هر مورد استر اولیه بازیافت شد. لذا در ادامه کار از این روند چشم پوشی شد و روش دیگر مورد استفاده قرار گرفت. در روش دوم از واکنش دی اتیل آمین بر یک اسید هالید استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۲/۷ گرم از متا-تولیک اسید پس از پودر شدن در داخل یک بالون ته گرد که با گیره روی دستگاه بهم زن حرارتی نصب شده بود ریخته و سپس ۳۰۰ میلی لیتر تیونیل کلراید (۰/۰۴ مول) با پی پت قطره قطره، به تولیک اسید پودر شده اضافه گردیده دو قطره دی متیل فرمامید DMF (dimethyl formamide) نیز به عنوان کاتالیزور به بالون اضافه شد. بعد از افزودن تمام تیونیل کلراید به بالون دستگاه مبرد روی آن نصب و جریان آب سرد در مبرد برقرار گردید. در اثر حرارت (حدود ۹۰ درجه) متا-تولیک اسید به راحتی در تیونیل کلراید حل می شود و محلول شفاف بوجود می آید که با ادامه حرارت دادن و پیشرفت واکنش، پس از ۱۵ دقیقه محلول زرد رنگ

شفافی حاصل می شود که نشانه پیشرفت مرحله اول واکنش است. پس از سرد شدن بالون، آن را در یک ظرف حاوی آب و یخ قرار داده و سپس محلولی از ۷ میلی لیتر دی اتیل آمین (۰/۰۶۸ مول) در ۲۵ میلی لیتر دی اتیل اتر قطره قطره بر بالون اضافه گردید که به علت خنثی شدن تیونیل کلراید با دی اتیل آمین انفجارهای کوچکی نیز رخ می دهد. پس از افزودن تمام آمین به بالون، مخلوط موجود در بالون به کمک ۱۵ میلی لیتر کلروفرم به داخل یک قیف جدا کننده منتقل گردید. دو فاز از هم جدا شد. سپس فاز آبی دور ریخته شده و از فاز کلروفرمی که حاوی محصول اصلی، مقدار ناچیزی متا-متیل بنزوئیک اسید و متا-متیل بنزوئیل کلراید است، برای مرحله بعدی استفاده گردید. فاز کلروفرمی به یک ارلن منتقل و به آن ۲۵ میلی لیتر محلول سود ۵ درصد (وزنی/حجمی) اضافه شد. مجدداً فاز آبی دور ریخته و فاز کلروفرمی نگه داشته شد. فاز کلروفرمی با ۲۵ میلی لیتر آب شستشو داده شد. برای خشک کردن فاز آلی از سولفات سدیم بدون آب استفاده گردید. برای حذف حلال های موجود در فاز آلی (کلروفرم و اتر) از روتاری استفاده شد. بعد از جدا کردن کامل حلال ها، ۳/۶ گرم جسم روغنی به رنگ زرد مایل به قهوه ای با بازده ۹۶ درصد به دست می آید (۳). برای خالص سازی کامل DEET، ماده به دست آمده از ستون کروماتوگرافی عبور داده شد. برای شناسایی، طیف IR جسم گرفته شد سپس با طیف استاندارد مربوطه مقایسه گردید، خلوص جسم نیز به کمک سنجی پروتون NMR اثبات شد.

۲- فرموله کردن دی اتیل تولوآمید به صورت ژل:

برای تهیه مناسب و پایدار، باید تمامی اجزاء فرمولاسیون با هم سازگار باشند. در این رابطه دو عامل ژل کننده کاربوپول و هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز انتخاب گردید. در ادامه کار مشخص گردید که

جدول شماره ۱: اجزا ژل های پایه تهیه شده از HPMC

(هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز)

شماره فرمولاسیون	مقدار محلول تهیه شده (بر حسب گرم)	HPMC %w/w
۱	۲۵	۱
۲	۲۵	۱/۲
۳	۲۵	۱/۴
۴	۲۵	۱/۶

فرمولاسیون های ۱ و ۲ دارای ویسکوزیته مناسبی نبودند بدین خاطر در فرمولاسیون های بعدی میزان HPMC افزایش یافته است. به طوری که فرمولاسیون های ۳ و ۴ دارای ویسکوزیته و پایداری مناسبی بودند. لذا از این دو ژل پایه جهت فرمولاسیون ژل حاوی فراورده استفاده شد.

کاربوپول در حضور دی اتیل تولو آمید قادر به تشکیل ژل نمی باشد و بنابراین این پلیمر از مطالعات حذف گردید و کار با هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز ادامه یافت. گرچه گزارشی از فرمولاسیون این ترکیب با اتانل پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰، اسید استتاریک و کاربوپل NF 940 و پنولن TR-2 وجود دارد (۷). برای تهیه ژل، دی اتیل

جدول شماره ۲: اجزا تشکیل دهنده ژل های حاوی ماده

موثر دی اتیل تولو آمید

شماره فرمولاسیون	مقدار سیست حلال	مقدار ماده موثر در ژل %w/w	HPMC %w/w
۱	۸/۸	۱۲	۱/۴
۲	۸/۶	۱۴	۱/۶
۳	۸/۲	۱۸	۱/۶

فرمولاسیون ۱ پایدار و شفاف بود اما ویسکوزیته کمی داشت. فرمولاسیون های ۲ و ۳ پایدار و شفاف و دارای غلظت و ویسکوزیته مناسب تشخیص داده شدند. دو نمونه اخیر با غلظت ۱/۶ درصد از HPMC ساخته شده است.

تولو آمید سنتز شده با سیستم حلال مخلوط و خوب بهم زده شد تا حل شود سپس به آن هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز افزوده و برای ۲۴ ساعت به همان حال باقی ماند تا پلیمر کاملاً هیدراته شود پس از این مدت مخلوط توسط بهم زن خوب بهم زده شده تا ژل کاملاً تشکیل شود. فرمولاسیون ژل های تهیه شده در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. بعد از تهیه ژل، pH، میزان گسترش پذیری و ویسکوزیته ژل های تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت.

بحث:

برای سنتز DEET ابتدا از روش واکنش آمین با استر برای تهیه آمید استفاده شد. استر مربوطه در حضور مقادیر اضافه ازماتول تهیه گردید ولی در مرحله دوم از مجاورت اتر با آمین، آمید سنتز نگردیده بنابراین از روش واکنش آمین با اسید هالید جهت تهیه آمید استفاده شد. در این روش ابتدا از اسید مورد نظر اسید هالید مربوطه سپس آمید از واکنش اسید هالید سنتز شده با آمین مورد نظر تهیه گردید. بازده این روش ۹۶ درصد می باشد. برای تشخیص آمید به دست آمده از آن طیف IR گرفته شد. پیک مربوط به آمید در ناحیه ۱۶۳۹ ظاهر شد که کاملاً منطبق بر پیک مربوطه در استاندارد بود. در بخش فرمولاسیون نیز دو پلیمر مورد استفاده قرار گرفت که کاربوپول در حضور دی اتیل تولو آمید قادر به تشکیل ژل نبود. بنابراین کار بوپول از مطالعات حذف و کار تنها با هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز ادامه یافت. فرمولاسیون ۱ ژلی پایدار و شفاف بود ولی ویسکوزیته کمی داشت. فرمولاسیون ۲ و ۳ ژل هایی پایدار، شفاف و دارای غلظت و ویسکوزیته مناسب تشخیص داده شدند. این ژل ها بعد از ساخت پس از نگهداری در یخچال نیز شفافیت خود را حفظ نمودند. سیستم حلال شامل ۵۰ میلی لیتر آب، ۱۵ میلی لیتر اتانول، ۳۵ میلی لیتر پروپیلن گلیکول، یک گرم پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در کنار پلیمر ژل کننده

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله نویسندگان این مقاله از پشتیبانی و حمایت های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که انجام این طرح را امکان پذیر نموده اند تشکر و قدردانی می نمایند.

هیدروکسی پروپیل متیل سلولوز استفاده شد و ژل های ۱۴ و ۱۸ درصدی از این فرآورده تهیه شده ژل ها از نظر خواص فیزیکی مانند نقاط ژل شدن، پخش پذیری و خواص رئولوژیکی نظیر سختی، نقطه روان شدن و پایداری در برابر پارگی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. فرآورده های تهیه شده دارای pH به ترتیب ۷/۸۵ و ۷/۸۹ بوده و پایداری خوبی از خود نشان دادند.

منابع:

۱. وزارت کشاورزی. سازمان حفظ نباتات. فهرست سموم مجاز کشور، انتشارات سازمان حفظ نباتات. ۲۰، ۱۳۷۳.
2. Abu-Qare A.; Abou-Donia MB. Delevopment of high performance liquid chromatographic method for the quantification of chlorpyrifos, pyridostigmine bromide, N, N-diethyl toluamide and their methabolites in rat plasma and urine. J Chromatography B, 754, 533-8, 2001.
3. Amide synthesis: Preparation of N, N- diethyl toluamide cf. www.miracosta.edu/home/dir/211_s03.htm and Synthesis of N, N-diethyl toluamide the insect repellent in OFF of. www.science.uwaterloo.ca/course-notes/chemistry/chem360i/pdfs/360-manual-%20part1.pdf and Wang. J Chem. Educ, 51, 631, 1974; McCabe et al. J Org. Chem, 19, 493-96, 1954.
4. Der Marderosian AH. Pesticides. In: Gennaro AR. Remington: From Science and Practice of Pharmacy Mack Publishing Company. Pennsylvania: USA, Vol 2. 19th ed. 1358, 1995.
5. Fradin M. Mosquitoes and mosquito repellent, Annals of Internal Medicine, 128(11), 931-40, 1998 and Mosquito Repellent with DEET, cf. www.dphhs.state.mt.us/news/west-nile-virus-mosquito-repellant-deet.Htm.
6. General Notices and Requirements. In: United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopeia 23, the National Formulary 18. (USP 23, NF 18): From Rockville. Philadelphia: USA, 507, 1995.
7. Qiu H.; McCall JW.; Jun HW. Formulation of topical insect repellent N, N-diethyl toluamide (DEET): vehicle effects on DEET *in vitro* skin permeation. International of Journal Pharmaceutics, 136 (1-2): 167-76, 1998.
8. Reynolds JEF. Pesticides and repellents. In: Martindale, the extra pharmacopeia: From The Pharmaceutical Press. London: UK, 30th ed., 1126.3, 1468.4, 1553.3, 1571.1, 1580.2, 1654.2, 1993.
9. Salafsky B.; Ramaswamy K.; He YX.; Li J.; et al. Development and evaluation of lipodeet, a new long acting formulation of N, N-diethyl toluamide (DEET) for the prevention of schistosomiasis. Am J Trop Med Hyg, 61(5): 743-50, 1999.
10. Stineciper J.; Shah J. Percutaneous pereation of meta, ortho and para isomers of N, N-diethyl toluamide. International of Journal Pharmaceutics, 160, 31-41, 1998.
11. Wilcox CF. Pheromones and Insect repellents. In: Wilcox CF.; Wilcox MF. Experimental organic chemistry, a small-scale approach: From Prentice-Hall, Englewood Cliffs. New Jersey: USA, 2nd ed. 492-5, 1995.
12. Wilkinson JB. Insect repellents. In: Wilkinson JB.; Moor RJ. Harrys cosmeticology: From Longman Scientific & Technical. Singapore: 7th ed. 207-8, 1996.